

DELPHION

No active trail

[Select CR](#)[RESEARCH](#)[PRODUCTS](#)[INSIDE DELPHION](#)[Log Out](#)[Work Files](#)[Saved Searches](#)[My Account](#)Search: [Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#) [Derwent](#)[Help](#)

The Delphion Integrated View

Buy Now: ☒ [PDF](#) | [File History](#) | [Other choices](#)Tools: [Add to Work File](#): [Create new Work File](#) [Add](#)View: [Jump to: Top](#)[Go to: Derwent](#)☒ [Email this to a friend](#)

Title: **JP01093540A2: COMPOSITION FOR PREVENTING AND TREATING CANCER METASTASIS AND PROLIFERATION**

Derwent Title: Enhancing anti-proliferative and antiviral effects of e.g. interferon - using inhibitor of Golgi alpha-mannosidase D, e.g. swainsonine [\[Derwent Record\]](#)

Country: JP Japan

Kind: A (See also: [JP06081724B4](#))

Inventor: DENNIS JAMES W;

Assignee: MOUNT SINAI HOSPITAL CORP
[News, Profiles, Stocks and More about this company](#)

Published / Filed: 1989-04-12 / 1987-09-29

Application Number: JP1987000245712

IPC Code: Advanced: [A61K 31/435](#); [A61K 38/00](#); [A61K 38/21](#); [A61K 45/06](#); [A61P 31/12](#); [A61P 35/00](#); [A61P 43/00](#); [C07D 471/04](#);
Core: [A61K 45/00](#); [A61P 31/00](#); [C07D 471/00](#); more...
IPC-7: [A61K 37/02](#); [A61K 45/06](#); [C07D 471/04](#);

Priority Number: 1987-06-18 **US1987000065248**.

Abstract: PURPOSE: To obtain a composition, comprising an inhibitor of a golgi α -mannosidase II enzyme and an interferon or an interferon inducer and useful for preventing and treating cancer metastasis and proliferation disorder.

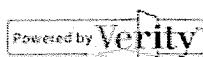
CONSTITUTION: This composition comprises (A) an inhibitor of a golgi α -mannosidase II enzyme, e.g. swainsonine and (B) an interferon or an interferon inducer, e.g. α -, β - or γ -interferon, poly (I.C.) poly(I.C.)-LC or a tumor necrosis factor therein. The concentrations of the respective ingredients are the α - or β -interferon at a concentration within the range of 102 to 5×10^4 units/m³ and the poly(I.C.) and poly(I.C.)-LC each at a concentration within the range of 0.1-100mg/m³ based on the ingredient A at a concentration within the range of 0.03-300 μ g/g. The antiproliferative properties and antiviral effects of the ingredient B are promoted by the use of the ingredient A together to inhibit the neoplasm formation and metastasis.

COPYRIGHT: (C)1989,JPO

INPADOC Legal Status: None [Buy Now: Family Legal Status Report](#)

Family: [Show 7 known family members](#)

Other Abstract Info: None

[Nominate this for the Gallery...](#)**THOMSON**

Copyright © 1997-2007 The Thomson Corporation

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#) | [Help](#)

⑫ 公開特許公報(A)

平1-93540

⑤ Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	④ 公開 平成1年(1989)4月12日
A 61 K 45/06	A E D	7252-4C	
37/02	A D Y	8615-4C	
// C 07 D 471/04	1 0 2	8829-4C	
(A 61 K 45/06)			
45/02)		7252-4C	
(A 61 K 45/06)			
31:70)		7431-4C	審査請求 未請求 発明の数 5 (全13頁)

⑤ 発明の名称 ゴルジ α -マンノシダーゼ II 酵素阻害物質を含有する組成物および
これを用いた予防、治療方法

⑥ 特 願 昭62-245712

⑦ 出 願 昭62(1987)9月29日

優先権主張 ⑧ 1986年9月29日 ⑨ 米国(U S) ⑩ 912485

⑪ 1986年9月29日 ⑫ 米国(U S) ⑬ 912486

⑭ 1987年6月18日 ⑮ 米国(U S) ⑯ 065248

⑰ 発 明 者 ジェイムス ウイルソ カナダ国 エム9シー 2 ヴイ7 オンタリオ州 エトビ
ン デニス コーク メイプルダウン ロード 17
⑱ 出 願 人 マウント シナイ ホ カナダ国 エム5ジー 1 エックス5 オンタリオ州 ト
スピタル ロント ユニバーシテイ アベニュー 600
⑲ 代 理 人 弁理士 柳田 征史 外1名

明 細 書

1. 発明の名称

ゴルジ α -マンノシダーゼ II 酵素阻害物質
を含有する組成物およびこれを用いた予防、
治療方法

2. 特許請求の範囲

- (1) ゴルジ α -マンノシダーゼ II の酵素阻害物質を
有し、インターフェロンまたはインターフェロン
誘導物質を含有する組成物。
- (2) ゴルジ α -マンノシダーゼ II の酵素阻害物質の
有効量と製薬的に許容できるキャリアを有する癌
転移と増殖障害の予防および治療用組成物。
- (3) ゴルジ α -マンノシダーゼ II の酵素阻害物質が
スワインソニンである特許請求の範囲第2項記載
の組成物。
- (4) ゴルジ α -マンノシダーゼ II の酵素阻害物質の
有効量とインターフェロンまたはインターフェロ
ン誘導物質の有効量を有し、インターフェロンま
たはインターフェロン誘導物質の抗増殖性と抗ウ
イルス効果を促進し、新生物形成と転移を阻害す

る組成物。

- (5) ゴルジ α -マンノシダーゼ II の酵素阻害物質が
スワインソニンである特許請求の範囲第4項記載
の組成物。
- (6) インターフェロンまたはインターフェロン誘導
物質が α -または β -インターフェロンである特
許請求の範囲第5項記載の組成物。
- (7) インターフェロンまたはインターフェロン誘導
物質がポリ (I. C.) である特許請求の範囲第
5項記載の組成物。
- (8) インターフェロンまたはインターフェロン誘導
物質がポリ (I. C.) -LCである特許請求の
範囲第5項記載の組成物。
- (9) スワインソニンの濃度が0.03~300 $\mu\text{g/g}$ で
ある特許請求の範囲第3, 5または6項記載の組
成物。
- (10) スワインソニンの濃度が0.03~300 $\mu\text{g/g}$
である特許請求の範囲第7または8項記載の組
成物。
- (11) α -または β -インターフェロンの濃度が

$10^2 \sim 5 \times 10^7$ 単位/ ml である特許請求の範囲第6項記載の組成物。

(12) ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質の有効量と製薬時に許容できるキャリアを患者に投与する癌転移と増殖障害の予防と治療方法。

(13) ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質がスワインソニンである特許請求の範囲第12項記載の方法。

(14) スワインソニンと製薬時に許容できるキャリアを経口投与する特許請求の範囲第13項記載の方法。

(15) スワインソニンと製薬時に許容できるキャリアの投与量が $0.03 \sim 300 \mu\text{g/g}$ である特許請求の範囲第13項または第14項記載の方法。

(16) ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質の有効量とインターフェロンまたはインターフェロンの有効量を患者に投与する増殖障害、ウイルス性感染および新生物形成および転移の予防および治療方法。

(17) ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物

g/ml である特許請求の範囲第19項記載の方法。

(25) ポリ(I, C.)の投与量が $0.01 \sim 100 \mu\text{g/ml}$ である特許請求の範囲第20項記載の方法。

(26) 酵素阻害物質を経口投与し、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を静脈内、筋肉内、腹膜内または局所に投与する特許請求の範囲第16項記載の方法。

(27) スワインソニンを経口投与し、 α -または β -インターフェロンを静脈内投与する特許請求の範囲第18項記載の方法。

(28) スワインソニンを経口投与し、ポリ(I, C.)を静脈内投与する特許請求の範囲第19項記載の方法。

質がスワインソニンである特許請求の範囲第16項記載の方法。

(18) インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質が α -または β -インターフェロンである特許請求の範囲第17項記載の方法。

(19) インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質がポリ(I, C.)である特許請求の範囲第17項記載の方法。

(20) インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質がポリ(I, C.)-LCである特許請求の範囲第17項記載の方法。

(21) スワインソニンの投与量が $0.03 \sim 300 \mu\text{g/g}$ である特許請求の範囲第17, 18または19項記載の方法。

(22) スワインソニンの投与量が $0.03 \sim 300 \mu\text{g/g}$ である特許請求の範囲第20項記載の方法。

(23) α -または β -インターフェロンの投与量が $10^2 \sim 5 \times 10^7$ 単位/ ml である特許請求の範囲第18項記載の方法。

(24) ポリ(I, C.)の投与量が $0.01 \sim 100 \mu$

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は増殖障害、ウイルス性感染および新生物形成および転移のような病気を予防し治療するための組成物と、この組成物を用いた予防および治療法に関する。

(従来の技術)

腫瘍細胞の継続的な増殖は癌にとって本来必要なことである。大抵の癌は結局、第二の部位に転移し腫瘍を形成する能力のため致命的である(ニコルソン・ジー・エル, Biochem. Biophys. Acta. 695:113, 1982; ポスト・ジーおよびフィドラー・アイ・ジェー, Nature 283:139, 1980, およびワイズ・エル, Semin. Oncol. 4:5~19, 1977)。従って、転移と腫瘍細胞増殖を共に抑制できる医薬または生物学的応答変異遺伝子が必要である。この点で、腫瘍細胞表面に見出される一定の複合糖質構造が転移現象の表示に対し直接寄与していることが開示された(ニコルソン・ジー・エル, Biochem. Biophys. Acta 695:113, 1982)。

本発明者や他の者によって行われた先行的な研究では、癌細胞の Asn- 結合炭水化物の変化が転移の可能性を減らす (デニス・ジェー・ダブリュら *Nature* 292:242, 1981; デニス・ジェー・ダブリュら, *J. Cell Biol.* 99:1034, 1984; デニス・ジェー・ダブリュ, *J. Natl. Cancer Inst.* 74:1111, 1985; タカサイ・エスら, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 92:735 ~ 742, 1980)。多くのネズミ癌細胞系に対し、入手できる細胞表面のガラクトースと N-アセチルガラクトサミン のシアリル化は転移の可能性を増す (ヨゲスワレン・ジー, およびサルク・ビー・エル, *サイエンス (Wash. DC)*, 1514~1516, 1981)。また B 16 黒色腫と MD A Y-D 2 癌細胞系のレクチン抵抗変異体においてシアリル化した Asn- 結合オリゴ糖の損失が転移の可能性を減らすことが見出された (フィン・ジェーら, *Cancer Res.* 40: 2580~2587, 1980, デニスら, *J. Cell Biol.* 99:1034~1044, 1984)。さらに、本発明者は、これらの構造の損失がそのまま癌細胞の成長速度を減らすことを示した (ケルベル・ア

ール・エス, デニス・ジェー・ダブリュら, *Cancer Metastasis Reviews* 1.99, 1982)。

ネズミとヒトの細胞の悪性の転移は Asn- 結合オリゴ糖の分枝を増加することが多い (ヤマシタ・ケイら, *J. Biol. Chem.* 259.10834, 1984, ピアス・エムおよびアラング・ジェー, *J. Biol. Chem.* 261.10772, 1986, デブレイ・エイチら, *Int. J. Cancer* 37.807, 1986), また、これは複合糖質中のシアル酸のレベルを増加する。本発明者の最近の研究では、分枝の増加は転移した表現型に直接関係しないが、二次的に遺伝子表現の二次的変化として生ずることができることを示した。重要なことは、 Asn- 結合オリゴ糖の分枝の増加は、直接癌細胞の転移の可能性に関係していることを、本発明者は示した (デニス・ジェー・ダブリュら, *サイエンス*, 1987)。また、生体中の選択的成長の利点を癌細胞に与えることができる (ケルベル・アール・エスら, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84.1263, 1987)。

スワインソニン (SW) は、斑入りロコ草中に

見られ、家畜が摂取すると、この化合物はリソソームマンノシダーゼとゴルジ α -マンノシダーゼ II を抑制する (モリノー・アール・ジェーおよびジェイムス・エル・エフ, *サイエンス (Wash. DC)* 216:190 ~ 191, 1981; ツリサニ・ディー・アール・ビーら, *J. Biol. Chem.* 257:7936~7939, 1982)。脳組織は遺伝性のリソソーム貯蔵病に見られるものと同じオリゴマンノース構造を含むリソソーム小胞を蓄積する。多くの組織特定化マンノシダーゼがあり、ネズミはスワインソニンによって抑制されない脳酵素を有することが見出された (ツルシアニ・ディー・アール・ビー, およびトウスター・オー, *J. Biol. Chem.* 260:13081 ~ 13087, 1985)。さらに、ラットの脳はオリゴマンノース構造を蓄積せず、この化合物を与えても神経病の徴候を示さない (ツルシアニ・ディー・アール・ビーら, *Arch. Biochem. Biophys.* 232 : 76~85, 1984)。最も顕著なことは、スワインソニンがゴルジ処理酵素 α -マンノシダーゼ II を拮抗的に阻害することによって、 Asn- 結合オリゴ糖の分枝

を抑えることが見出されたことである (ツルシアニ・ディー・アール・ビー, *J. Biol. Chem.* 258. 7578, 1983)。

ハンフリーら (*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83:1752 ~ 2756, 1986) は、B 16 F 10 黒色腫細胞をスワインソニンで治療すると、B 16 F 10 細胞の静脈内注射後に C 57 B L / 6 マウスの肺にコロニーをつくる能力を阻害することを見出した。しかし、この治療は皮下移植後の B 16 F 10 の生存力や腫瘍形成に影響しなかった。

ツニカマイシンはストレプトミセス・リソスペルフィクスによって生成される抗生物質であり、 Asn- 結合オリゴ糖鎖の形成の第一段階を阻害することが見出された (ケラー・アール・ケイら, *Biochem.* 18:3946 ~ 3952, 1979)。ツニカマイシン中で終夜成長した B 16 黒色腫細胞は肺のコロニー化にあまり有効でなかった (イリムラら, *Cancer Res.* 41.3411~3418, 1981)。しかし、ツニカマイシンは糖蛋白の局在化の著しい機能不全と細胞中の機能を生じさせる (ギブソン・アールら、

Trends in Biochem. Sci. NOV.290 ~293,1980)。従って多くの細胞に対して毒性があることが見出された(クリスオド・ビー・エイ、およびエス・エス・クラグ、J. Cell Biol.,94:586~591, 1982)。

インターフェロンはウイルスおよび成長因子に応答する動物細胞によって選択される蛋白質である(ズロ・ゼット・エヌら、Cell 43:793,1985)。インターフェロンは細胞表面のリセプターに結合し、多数の抗ウイルス効果および細胞成長の抑制を含む生物学的応答を現わす(エス・エル・リンら、サイエンス233 : 356 ~358,1986)。

インターフェロンはヒトの細胞系のC-ミック腫瘍遺伝子の表現を減らすことが示された(エイナト・エムら、Nature 313,597,1985)。C-ミックは細胞質遺伝子のひとつであり、増殖するように刺激された細胞中で活発に転写し(ラウ・エル・エフおよびナサンズ・ディー、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84,1182,1987)、細胞の増殖に必要であると考えられている(ホワイトフィール

ド・ジェー・エフら、Cancer and Metastasis Reviews 5,205,1987)。このように、細胞中のC-ミックmRNAの水準は、細胞成長段階のインジケーターとして使用できる。

インターフェロンは大抵の癌の治療に臨床的に試用されてきた(ゴールドシュタイン・ディー、およびラスグロ・ジェー、Can. Res. 46:4315,1986)。インターフェロンに対する重要な応答速度は、毛細胞白血病およびリンパ腫で観察されたが、他の腫瘍タイプはあまり応答しなかった。高濃度のインターフェロンが必要な場合が多く、これは例えば低血圧や腎疾患のような生命が危機に直面する副作用がある(レビン・エイ・エスら、Can. res.39:1645 ~1650,1979)。

多数のインターフェロン誘導物質が開示された。ポリイノシニック・ポリシチジル酸(ポリ(I, C.))、合成二重鎖RNAは生体外と生体内のインターフェロンの有効な誘導物質である。ポリ(I, C.)-リシン(ポリ(I, C.), LC)はポリ(I, C.)よりもヒトにおいて安定であ

り、臨床研究に使用された(レビン・エイ・エスら、Cancer Res.39:1645~1650)。ディー・ハンター(Nature 322: 14~18, 1986)は、他のインターフェロン誘導物質、すなわち形質転換成長因子(TGF- β)および腫瘍壊死因子(TNF)を発表した。

ツニカマイシンはエンベローブウイルスにインターフェロンの抗ウイルス性効果を促進させ、3T3繊維芽細胞のインターフェロンの抗増殖性効果を促進する(モヘシュワリ・アール・ケイら、サイエンス219:1339~1341,1983)。ツニカマイシンは毒性があるので臨床的には用いられなかった(モリン・エム・ジェーら、Can. Res. 43:1669~1674,1983)。

(問題点を解決するための手段)

本発明はゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質を有する組成物であり、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を含む。ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質を有する組成物は、製薬的配合において、癌転移と細胞増殖

を阻害する。以下、促進組成物と呼ぶこの組成物は、ゴルジ酵素 α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を含有し、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質の抗増殖性効果と抗ウイルス性効果を促進し、新生物形成と転移を阻害する。

本発明はゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質と製薬的に許容できるキャリアの有効量を患者に投与する増殖障害と癌転移の予防および治療方法である。本発明はまた、有効量のゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質と有効量のインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を患者に投与する増殖障害とウイルス性感染と新生物形成と転移の予防および治療方法である。

先の研究では、スワインソニンを用いたB16F10ネズミ黒色腫細胞の治療は6匹のネズミに対しC57BLの肺をコロニー化する能力を阻害することを示した(ハンフリーら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A:83:1752~2756,1986)。しかし、これまで、スワインソニンは腫瘍に関係している動物

には投与されてなく、先にも、スワインソニンには癌転移の予防や治療の治療剤として使用できることは示唆がなかった。

本発明によれば、スワインソニン単独の投与後に転移を減らした。スワインソニンをマウスのグループに経口投与し、続いて、スワインソニン処理のB16F10黒色腫細胞を静脈注射した。これらのマウスは、未処理のコントロールマウススワインソニン処理のB16F10黒色腫細胞を投与したコントロールマウスよりも、かなり肺の結節が少なくなっていた。ハツカネズミのリンパ性網状腫瘍系MDAY-D2およびヒトの結腸癌細胞を用いて、同様の結果が得られた。

ヌードマウスの飲料水に投与したスワインソニン単独では、続いてマウスに移植したヒトの結腸癌細胞系の成長速度を減らした。同様に生体外でのヒトの癌細胞の倍になる時間は、培養基にスワインソニンを添加すると増加した。スワインソニンを加えて培養したHT29mヒト結腸癌細胞は、さらに低い増殖状態で細胞に対し期待されるよう

群にスワインソニンとポリ(I, C.)を投与した後、減少した。

ヒトの α_2 -インターフェロンの規則正しい投与と組合わせたスワインソニンの経口投与は、ヌードマウスでのHT29mヒト結腸癌細胞の成長を阻害するように共同して作用した。またスワインソニンはヒトHT29m結腸癌細胞および組織培養で成長するヒト腎臓癌細胞SN12CL1に対するインターフェロンの抗増殖性効果を促進する。ヒト癌細胞成長に対するスワインソニンと α_2 -インターフェロンの共同作用の効果は、ハツカネズミのリンパ性網状腫瘍系に認められたものと同じである。

本発明はゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質を有する組成物に関し、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を含有する。ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質を有する組成物は製薬的配合において癌転移と細胞増殖を阻害する。ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェ

ロニック表現が減少していた。

本発明による促進組成物は、投与されるインターフェロンおよびインターフェロン誘導物質を少量投与で毒性の問題を減らすので、増殖障害とウイルス性感染と新生物形成と転移の予防と治療に対して、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質単独よりも優れている。

充実性腫瘍成長の重要な抑制は、インターフェロン誘導物質のポリ(I, C.)と組合わせたスワインソニンを、リンパ性網状腫瘍系MDAY-D2を注射したマウスに投与した場合に認められた。スワインソニンとインターフェロン誘導物質ポリ(I, C.)の作用は付加的でなく、反対に共同的であることは意外である。またスワインソニンは生体外でMDAY-D2腫瘍細胞にマウス α/β インターフェロンの抗増殖性効果を促進することが見出された。これは、スワインソニンとインターフェロンの阻害効果が腫瘍細胞増殖の阻害によることを示している。

また転移はB16F10腫瘍細胞を注射したマウス

ロン誘導物質を含有する促進組成物は、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質の抗増殖性効果と抗ウイルス性効果を促進し、新生物形成と転移を阻害する。

ゴルジ α -マンノシダーゼIIの適当な酵素阻害物質は、スワインソニンと、これの活性類似物質である。

本発明の促進組成物に対し適当なインターフェロンとインターフェロン誘導物質は α -インターフェロン、 β -インターフェロン、 γ -インターフェロン、ポリ(I, C.)、ポリL-リシンとコンプレックスしたポリ(I, C.) (ポリ(I, C.)-LC)、腫瘍ネクロシス因子(TNF)、形質転換成長因子であり、 α -インターフェロンおよび β -インターフェロンが好ましい。

酵素阻害物質は、例えば充填剤、乳化剤、潤滑剤または緩衝物質のような製薬的に許容できるキャリアと組み合わせる。成分は、例えば経口投与用の錠剤とカプセル、または経口投与、静脈注射、筋肉内注射または腹腔内投与に適した懸濁液また

は溶液のような適当な処方形態の慣習的方法を用いて構成される。

ゴルジ α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質と製薬的に許容できるキャリアの投与は、転移と細胞増殖を減らす効果があり、従って、種々の形の癌の治療に使用できる。さらに特に、種々の形の腫瘍形成、例えば白血病、リンパ腫、肉腫、黒色腫、アデノーマ、充実性組織の癌腫、および乳頭腫のような良性の病変を治療するために用いられる。組成物はヒトや種々の他の哺乳動物の治療に用いられる。

本発明による好適な促進組成物は、スワインソニンと α -、 β -または γ -インターフェロンまたはポリ(I. C.)またはポリ(I. C.)-LC, またはTNF, またはTGFを含み、 α -または β -インターフェロンが好ましい。

α -マンノシダーゼII酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質の組み合わせは、抗増殖性効果を高める効果があり、新生物形成と転移を阻害し、従って、種々のタイプ

の治療、例えば種々の形の癌の治療に使用できる。本発明による促進組成物は、治療は次の化学療法または放射線療法を用いる。さらに特に、促進組成物は種々の形の腫瘍形成、例えば白血病、リンパ腫、黒色腫、アデノーマ、肉腫、充実性組織の癌腫、神経系の腫瘍および乳頭腫のような良性の病変を治療するために用いられる。促進組成物は関節硬変症やウイルス性の感染のような他の増殖性の状態に使用できる。促進組成物はヒトや種々の他の哺乳動物を治療するために用いることができる。

本発明の組成物の成分の濃度は、成分の活性度に依存して変わる。酵素阻害物質に対して、濃度は0.03~300 $\mu\text{g/g}$ である。インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質に対して、例えば、ポリ(I. C.)およびポリ(I. C.)-LCの濃度は0.1 $\text{mg}\sim 100 \text{ mg/ml}$ であり、 α -または β -インターフェロンに対して、濃度は、 $10^2\sim 5\times 10^7$ 単位/ ml である。

本発明はまた、ゴルジ α -マンノシダーゼIIの

酵素阻害物質と製薬的に許容できるキャリアの有効量を患者に投与する癌転移と細胞増殖の予防と治療のための方法に関する。

さらに本発明は、有効量のゴルジ酵素 α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質と有効量のインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を患者に投与する増殖障害とウイルス性感染と新生物形成と転移の予防および治療方法である。

酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を同時に、別々にまたは逐次的に投与できる。スワインソニンと α -または β -インターフェロンに対して、例えば、スワインソニンは毎日1回 α -または β -インターフェロンの投与と共に1日1回または数回投与できる。

適当な製薬的処方における酵素阻害物質は経口、静脈内、腹膜内に投与でき、経口投与が好ましい。経口投与の形態に対して、酵素阻害物質は適当な投与形態、例えば水溶液、錠剤、およびカプセルに慣習的方法によって変えられる。静脈内、筋肉内または腹膜内投与に対して、酵素阻害物質と製

薬的に許容できるキャリアを慣習的方法を用いて溶液、懸濁液または乳濁液にする。

適当な製薬処方におけるインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質は、静脈内、筋肉内または腹膜内または経口で腫瘍に投与できる。静脈内、筋肉内、腹膜内または局所投与に対して、インターフェロンまたはインターフェロン誘導物質は、希望するときはこの目的のための慣習的物質、例えば可溶剤、乳化剤または他の補助剤と共に、溶液、懸濁液または乳濁液に変える。適当な溶媒の例は水、生理的食塩水溶液、アルブミン、カルボキシメチルセルロース溶液、および蛋白質安定剤である。

ゴルジ酵素 α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質と製薬的に許容できるキャリアの有効量を患者に投与する癌転移と細胞増殖の予防と治療のための本発明方法によれば、酵素阻害物質の十分な投与は、転移を減らしおよび/または抗増殖性効果を示すために十分な最小の投与量である。また、この投与量は患者の体重と体格に依存する。

有効量のゴルジ酵素 α -マンノシダーゼIIの酵素阻害物質の有効量のインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質を患者に投与する増殖障害、ウイルス性感染および新生物形成、および転移の予防と治療のための本発明方法によれば、酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質の投与量は、酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質単独では十分な効果を示さないような量をそれぞれ選択する。酵素阻害物質とインターフェロンまたはインターフェロン誘導物質の十分な投与量は、抗増殖性または抗ウイルス性効果を促進し、あるいは新生物形成および転移を阻害するために十分な最小量である。成分の投与量は患者の体重と体格に依存する。

ヒトおよび他の哺乳動物において本発明による方法は、例えば酵素阻害物質の投与量は体重1gにつき0.03~300 μ gであり、1~10 μ gが好ましい。ポリ(I. C.)とポリ(I. C.)-L Cの投与量は0.01~100 mg/mlであり、 α -また

は β -インターフェロンは $10^2 \sim 5 \times 10^7$ 単位/mlである。

(実施例)

以下、実施例により本発明を説明する。

実施例1

B16F10黒色腫細胞による肺臓コロニー化

B16F10腫瘍細胞をスワインソニン(0.3 μ g/ml)の存在または不存在下で48時間培養し、 10^5 個の細胞を最初の日にC57BLマウスの側部尾静脈に注射した。マウスに2.5 μ g/mlのスワインソニンを含む飲料水を与え、2日後に腫瘍細胞を注射し、スワインソニンを17日間維持した。ポリ(I. C.)を注射したマウスに、その前日に100 μ gの腫瘍細胞を腹膜内注射した。

肺臓結節を24日目に数え、それぞれ5匹ずつのマウス群にした。

第1表の結果は、C57BLのマウスの飲料水に2.5 μ g/mlのスワインソニンを添加するとB16F10黒色腫細胞による器官のコロニー化が減少した。

実施例2

ハツカネズミMDAY-D2腫瘍細胞の実験的転移

MDAY-D2腫瘍細胞を48時間スワインソニン(0.3 μ g/ml)の存在または不存在下に培養し、 10^4 個の細胞を最初の日にマウスの側部尾静脈に注射した。マウスにスワインソニン(2.5 μ g/ml)を含む飲料水を与え、2日後に腫瘍細胞を注射し、スワインソニンを17日間保持した。ポリ(I. C.)を注射したマウスに前日に100 μ gの腫瘍細胞を腹膜内注射し、再び3日目に注射した。100日以上生きたものは腫瘍がなく長期生存したものとして数えた。

スワインソニン処理した細胞を注射したマウス(第2表)は、未処理の細胞を注射したものに比べて、長期生存する率はかなり高い。また長期生存する率の高いものはスワインソニンを投与したマウスにも見られた。

第1表

細胞	処 理	マウス	肺 臓 結 節	
			実験1	実験2
			(平均+/-S. D.)	
無	無	無	58±33	>100
無	ポリI. C.	無	37±40	N. D.
スワインソニン	無	無	16±12	44±36
スワインソニン	ポリI. C.	無	24±18	2±2
スワインソニン	スワインソニン	無	5±6	N. D.
スワインソニン	スワインソニン+ポリI. C.	無	4±4	0±0

N. D. およびN. S. は実施しない、統計差なしをそれぞれ示す。

実施例3

スワインソニンとポリ(I, C.) - 阻害充実性腫瘍成長

マウスとスワインソニン(2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)を含む飲料水を与え、2日後に 10^5 個のMDAY-D2腫瘍細胞を注射した。1日前にポリ(I, C.)を投入し、2日後に腫瘍細胞を注射した。腫瘍を15日目に除き体重を計った。飲料水に追加したスワインソニンおよび/または2回のポリ(I, C.)の腹腔内注射を与えたマウスのMDAY-D2腫瘍の成長を第1図に示す。飲料水に加えたスワインソニンと2回のポリ(I, C.)の腹腔内注射の組み合わせは、MDAY-D2腫瘍の成長速度を減少した。ポリ(I, C.)とスワインソニンが作用し、MDAY-D2腫瘍成長をそのまま阻害した。

実施例4

スワインソニンによるインターフェロンの抗増殖性効果の促進

MDAY-D2腫瘍細胞を $10^3/\text{ml}$ で組織培養

第2表

細胞	処 理	マウス	長期生存数/注射したマウスの数	
			実験1	実験2
無	無	無	0/5	0/5
無	無	ポリI, C.	0/5	0/5
スワインソニン	無	無	3/5	1/5
スワインソニン	無	ポリI, C.	2/5	0/5
スワインソニン	スワインソニン	スワインソニン	実施せず	1/5
スワインソニン	スワインソニン	スワインソニン+ポリI, C.	実施せず	3/5

プレートに接種し、一連の希釈したマウス α/β -インターフェロン(シグマ)を添加した。細胞をスワインソニン(1 $\mu\text{g}/\text{ml}$)の存在および不存在に培養し、コウルターカウンタを用いて5日目に細胞数を測定した。第2図の結果は、スワインソニンが α/β -インターフェロンの抗増殖性効果を高めることを示した。

実施例5

確立したMDAY-D2転移を受けるマウスの生存に対するスワインソニンとポリ(I, C.)の効果

MDAY-D2腫瘍細胞をS. C.注射し、得られた腫瘍を12日後に外科的に切除した。マウスを4つの治療群に分けた。ポリ(I, C.)を12日目と15日目に投与し、スワインソニン追加飲料水を12~30日の間に与えた。生存時間を90日まで測定し、90日以上生存したマウスを長期生存とした。

第3図は確立したMDAY-D2転移を受けるマウスの生存にスワインソニンとポリ(I, C.)

の効果を示す。スワインソニンとポリ(I, C.)の組み合わせはマウスの生存時間を長くした。

実施例6

ヒト結腸癌細胞(H T 29m)をスワインソニンの存在または不存在下で48時間培養し、 10^6 個の細胞をマウスに静脈注射した。第3表の結果は、スワインソニンがヒト結腸癌細胞(H T 29m)の転移を減らしたことを示している。

第3表

H T 29M 処理	転移した マウス	マウスの病変 平均数
無	4/5	2.4
スワインソニン	2/5	0.8

実施例7

ヒト結腸癌細胞(H T 29m)とヒト腎臓癌細胞(S N 12 C L I)を、無添加(C)、1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のスワインソニン(SW)、1000単位 of ヒト α_2 -インターフェロン(α_2) ; またはスワインソ

ニンと α_2 -インターフェロンの組み合わせ(SW+ α_2)、および7%胎児牛血清を含む培地で成長させた。細胞を1日目に 10^5 /mlで培養し4日後に数えた。スワインソニン中の細胞は実験開始日0日目の48時間スワインソニン中で予じめ成長させた。

第4図の結果は、スワインソニン単独は組織培養基中で成長するヒト癌細胞の増殖性を減らしたことを示している。またスワインソニンは組織培養基中で成長するヒト癌細胞に対するヒト α_2 -インターフェロンの抗増殖性効果を促進した。抗増殖性効果は、ここでは実施例8と9で述べるヌードマウス中で成長する腫瘍細胞に見られるものと類似であることを示した。

実施例8

Bal b/cヌードマウスに 10^5 ヒト結腸癌細胞(H T 29m)を皮下注射し、腫瘍の成長をモニターした。マウスを、飲料水に含む $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ のスワインソニンを与えたもの(SW)、週に二度 10^4 単位のヒト α_2 -インターフェロンを静脈注

I. C.)、または処理しなかったもの(無)のそれぞれの群に分けた。1日目に処理を開始し、マウスが39日目に犠牲となるまで続けた。

第6図の結果は、スワインソニン単独でヌードマウスに植え付けたヒト癌細胞の成長速度が減ることを示している。ポリ I. C. と組み合わせたスワインソニンはヌードマウス中のヒト癌細胞の成長を阻害するように作用した。この協同作用の効果は、実施例8で見られたものとは大きさが同じでなかった。これは多分、マウスをヒト α_2 -インターフェロンの非交差反応性に依るのであろう。ポリ I. C. の投与は、そのままヒト癌細胞に活性でないマウスインターフェロンを生じる。

実施例10

全RNAは、 $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ のスワインソニンの存在または不存在下で48時間、または1000単位/mlのインターフェロンA/D中で成長したH T 29m ヒト結腸癌細胞から抽出した。全RNA ($10 \mu\text{g}$) を電気泳動で分離し、ニトロセルロースにトランスフェクションした。C-ミックmRNA写しを、

射したもの(α_2)、飲料水に含む $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ のスワインソニンを与え、さらに週に二度 10^4 単位のヒト α_2 -インターフェロンを静脈注射したもの(SW+ α_2)、または処理しなかったもの(無)のそれぞれの群に分けた。1日目に処理を開始し、マウスが47日目に犠牲となるまで続けた。

第5図の結果は、スワインソニン単独でヌードマウスに植え付けたヒト癌細胞の成長速度が減ることを示している。ヒト α_2 -インターフェロンと組み合わせたスワインソニンはヌードマウス中のヒト癌細胞の成長を阻害するように作用した。

実施例9

Bal b/cヌードマウスに、 10^5 ヒト結腸癌細胞(H T 29m)を皮下脈注射し、腫瘍の成長をモニターした。マウスを、飲料水に含む $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ のスワインソニンを与えたもの(SW)、週に二度 $100 \mu\text{g}$ のポリ I. C. を静脈注射したもの(ポリ I. C.)、飲料水に含む $2.5 \mu\text{g}/\text{ml}$ のスワインソニンを与え、さらに週に二度 $100 \mu\text{g}$ のポリ I. C. を静脈注射したもの(SW+ポリ

ベクター pSV-c-myc-1 に運ばれたMOP C315 マウスプラズマサイトマから誘導したマウスC-ミックのエクソンIIフラグメントを用いる標準ノザンブロッティング法で消した。

スワインソニンの存在下(B)に培養したH T 29ヒト結腸癌細胞は、C-ミック発現が減った(第7図)。

4. 図面の簡単な説明

第1図はスワインソニン(SW)追加飲料水および2回のポリ(I. C.)の腹腔内投与の片方または両方を与えたマウスにおいて、MDAY-D2腫瘍の成長を示すグラフであり、

第2図は、組織培養におけるスワインソニンによるインターフェロンの抗増殖性効果の促進を示すグラフであり、

第3図は確立したMDAY-D2転移を受けるマウスの生存に対するスワインソニンとポリ(I. C.)の効果を示すグラフであり、

第4図はヒトH T 29m結腸癌およびS N 12 L C I 腎臓癌細胞を用いる組織培養における α_2 -イ

ンターフェロンおよび／またはスワインソニンの抗増殖性効果を示す棒グラフであり、

第5図はSW-追加飲料水および週2回のヒト α_2 -インターフェロン静脈注射の片方または両方で治療したヌードマウスのヒトHT29m結腸癌細胞の成長を示すグラフであり、

第6図はSW-追加飲料水および週2回のポリI.C.の静脈注射の片方または両方で治療したヌードマウスのヒトHT29m結腸癌細胞の成長を示すグラフであり、

第7図は未処理(A)、スワインソニン処理(B)、インターフェロン処理(C)、HT29m細胞におけるC-ミックmRNAの水準を比較するため、C-ミックに対し調べたノザンプロットのオートラジオグラムである。

Fig. 1

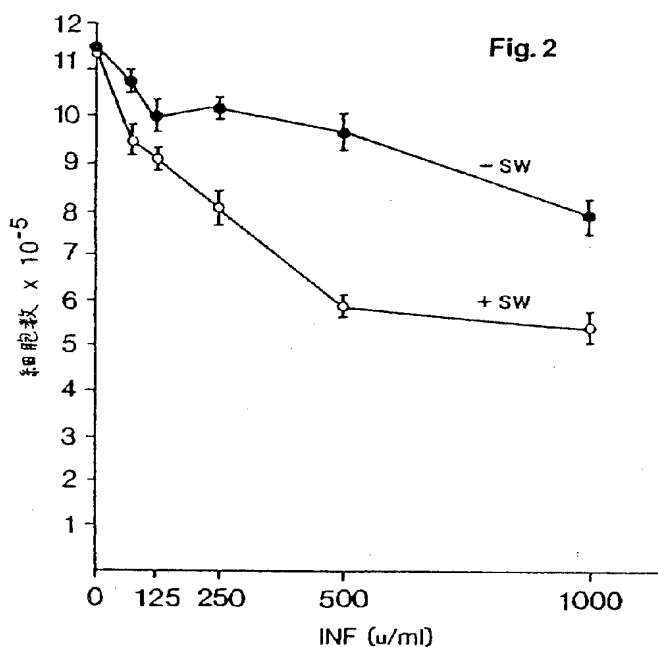
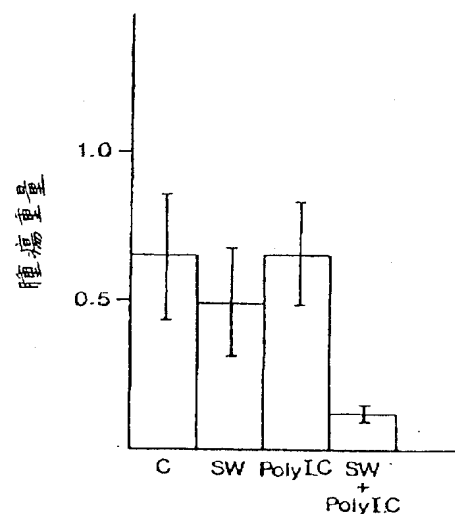


Fig. 2

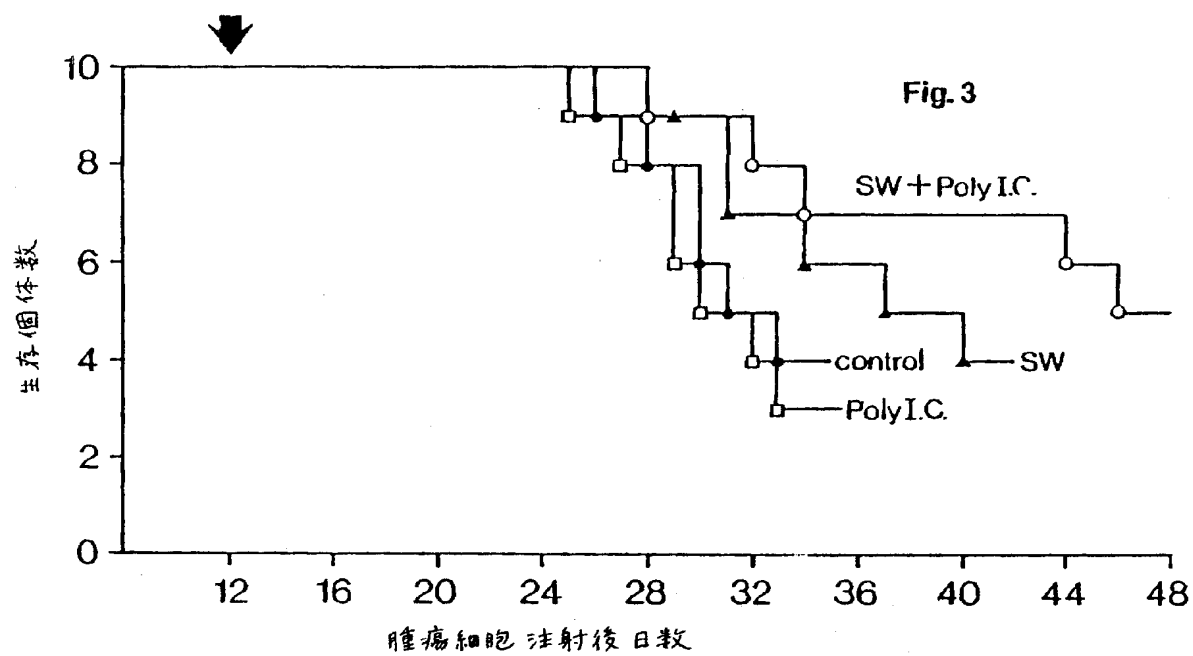
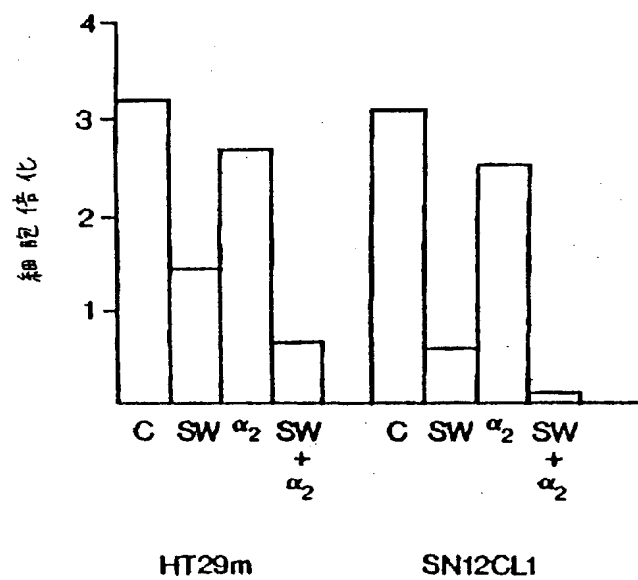


Fig. 4



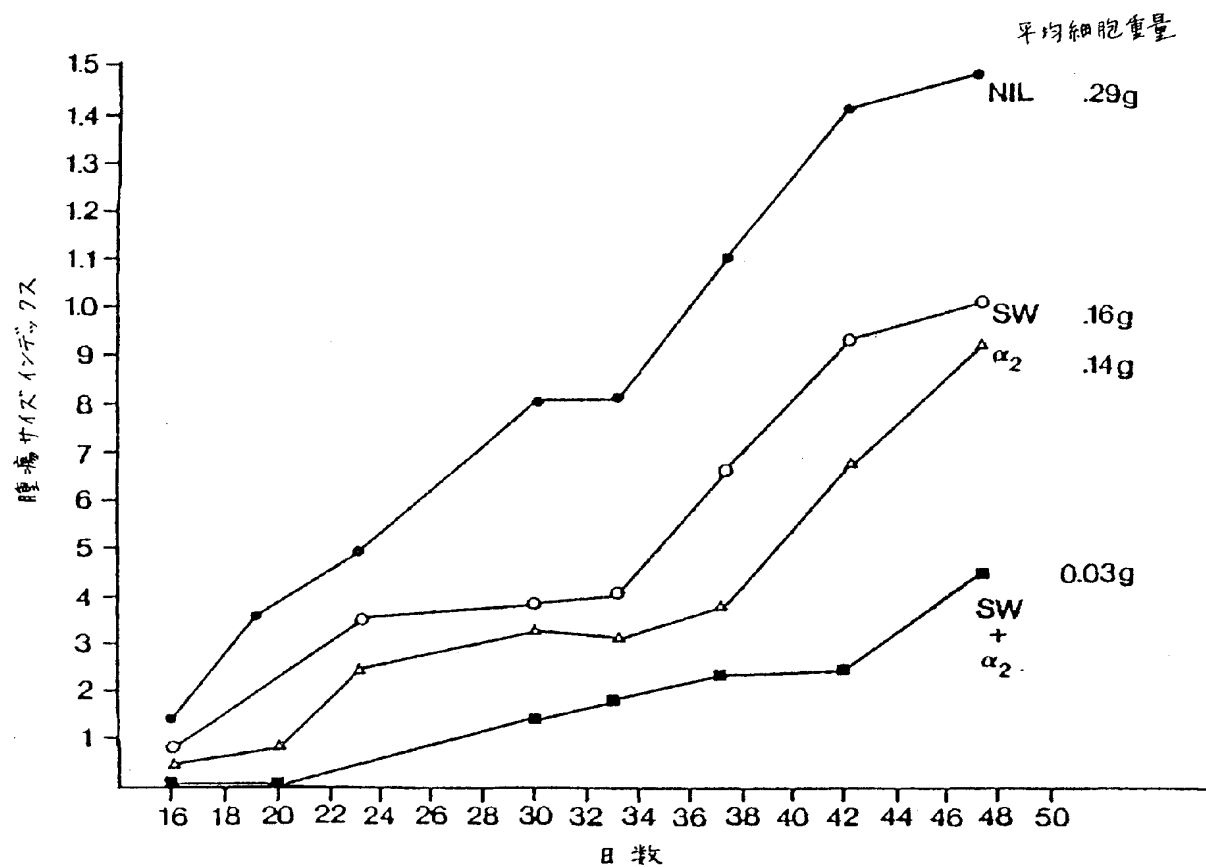


Fig. 5

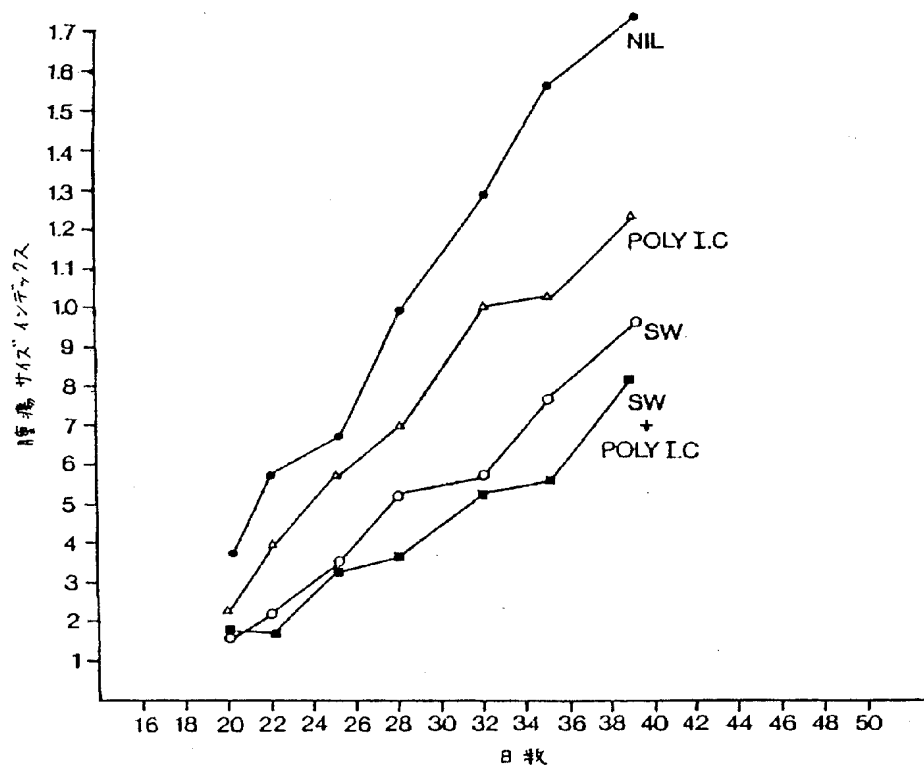


Fig. 6

図面の浄書(内容に変更なし)

手続補正書(方式)

Fig.7

昭和 63 年 11 月 14 日

特許庁長官 古田文毅殿

1. 事件の表示

昭和 62 年 特許願 第 245,712 号

2. 発明の名称

ゴルジ α -マンノシダーゼII酵素阻害物質を含有する組成物およびこれを用いた予防、治療方法

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住 所 カナダ国 エム5ジー 1エックス5 オンタリオ州
トロント ユニバーシティ アベニュー 600

名 称 マウント シナイ ホスピタル

4. 代理人

住 所 東京都港区六本木5-2-1 ほうらいやビル7階

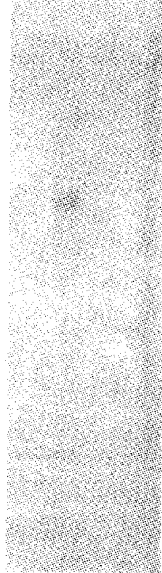
氏 名 (7318) 弁理士 柳田征史

電 話 03-479-2367

5. 補正命令の日付

昭和 63 年 10 月 25 日 (発送日)

A B C



6. 補正の対象

明細書の「図面の簡単な説明」の欄および図面

7. 補正の内容

- 1) 明細書第35頁最終行「オートラジオグラム」を「X線写真」に補正する。
- 2) 第7図を添付のとおり補正する。(内容に変更なし)